

DER EINFLUß VON ERGOTAMINTARTRAT AUF DIE
HYALURONIDASEHEMMENDE WIRKUNG DES ADRENALINS

Rosemarie Gönnerwein

1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DER EINFLUß VON ERGOTAMINTARTRAT AUF DIE
HYALURONIDASEHEMMENDE WIRKUNG DES ADRENALINS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rosemarie Gönnenwein
aus Stuttgart

München 1964



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 7. 1964



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Problematik	5
Eigene Versuche	8
Versuchsanordnung	8
Versuchsreihen	8
Statistische Auswertung	10
Abbildung und Tabellen	15
Diskussion	37
Zusammenfassung	39
Literaturverzeichnis	40

PROBLEMATIK

Auf der Suche nach der Wirkungsweise antirheumatischer Substanzen hat sich gezeigt, daß zumindest ein Teileffekt ihrer therapeutischen Wirksamkeit in einer Hemmung der beim Rheumatismus gesteigerten Hyaluronidaseaktivität zu bestehen scheint (1).

MATHIES (1) und andere Autoren messen der gesteigerten Hyaluronidaseaktivität in der Pathogenese des Rheumatismus eine gewisse Bedeutung bei. Die erhöhte Permeabilität der Kapillaren soll, zum Teil wenigstens, durch die gesteigerte Hyaluronidaseaktivität bedingt sein. Das entstehende perikapilläre Ödem beeinträchtigt den Stoffaustausch zwischen Kapillaren und Gewebe. Der O₂-Mangel des Gewebes wiederum soll die Entleerung der Grundsubstanz, die Verquellung der kollagenen Fasern und ihre Hyalinisierung, Degeneration und Nekrose, sowie die zelluläre Reaktion in Form von Mesenchymzellwucherungen, damit die Entwicklung des spezifischen Granuloms, zumindest begünstigen.

Das Ferment Hyaluronidase spaltet die Hyaluronsäure in kleinere Bruchstücke, lockert und löst damit die Grundsubstanz in der reichlich Hyaluronsäure enthalten ist. Die Wirkung der Hyaluronidase läßt sich durch ihre Injektion in die Haut an der gesteigerten und beschleunigten Ausbreitung von Farbstoffen messen (spreading factor). Andererseits können mit dieser Methode Stoffe, die eine Änderung der Hyaluronidaseaktivität bewirken, auf einfache Art getestet werden.

Entsprechende Versuche wurden mit Salicylaten (2, 3, 4), Phenylbutazon (5), Chloräthylbenzmethoxazon (6), Rindensteroiden (7) und Moorbädern (8, 9, 10) an Ratten und zum Teil auch an Menschen durchgeführt.

Die genannten Antirheumatica hemmen die Steigerung des Farbstoff-Spreading durch Hyaluronidase, wobei ihr Angriffspunkt nicht direkt am Ferment liegt, sondern über einen dazwischen geschalteten Mechanismus zu laufen scheint (11). Der Effekt der Hyaluronidasehemmung tritt nämlich nur an intakten, nicht dagegen an adrenaletomierten Tieren auf (11). Die Nebenniere ist somit am Wirkungsmechanismus beteiligt; es war weiter zu klären, ob dabei die Rinde oder das Mark notwendig ist. Eine Aktivierung der Rinde läßt sich nach SAYERS und SAYERS (12) an der Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren feststellen, da diese zum Aufbau der Steroide verbraucht wird. Der Sayers-Test ergab, daß Antirheumatica, außer Cortison, das hier als NNR-Hormon naturgemäß eine Sonderstellung einnimmt, die Nebennierenrinde stimulieren. Dagegen konnte DOMENJOZ (13) an hypophysectomierten Tieren keinen Abfall des Ascorbinsäure-Spiegels beobachten; in diesem Fall entfiel also die Rindenstimulierung, trotzdem trat die Hyaluronidasehemmung nach wie vor auf (14). Die Tatsache, daß zur Auslösung des Effektes, zwar die Nebenniere, nicht aber eine Rindenstimulierung erforderlich ist, berechtigt zu der An-

nahme, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung der Antirheumatica an eine Nebennierenmark-Funktion gebunden ist. Die Rindenstimulierung scheint eine mitlaufende Reaktion zu sein. Wenn die Markaktivierung der entscheidende Faktor ist, so war zu fordern, daß auch isolierte Anwendung von Nebennierenmark-Hormonen (Katecholaminen) die gleiche Wirkung auslöst. Tatsächlich bewirkten sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin eine Hyaluronidasehemmung bei intakten (4) und auch bei adrenaletomierten Ratten (15). Dabei zeigte sich kein auffallender quantitativer und qualitativer Unterschied der Wirkung der beiden Hormone.

Durch das Adrenolytikum Ergotamin kann die hyaluronidasehemmende Wirkung von Katecholaminen sowie auch die der Antirheumatica blockiert werden (4). Dagegen Ganglienblocker, die nach EICHHOLTZ (16) auch das Nebennierenmark blockieren und somit im Sinne einer Adrenaletomie wirken, heben nur die Wirkung der Antirheumatica, nicht dagegen die von experimentell zugeführtem Adrenalin und Noradrenalin auf (17). Die Hyaluronidasehemmung wird hier also nicht peripher, sondern am Nebennierenmark blockiert; ein weiterer Beweis für die Annahme, daß der Mechanismus über das Nebennierenmark läuft und vermutlich an eine Katecholamin-Ausschüttung gebunden ist. Die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin tritt zu einem Zeitpunkt (nach 15 - 45 Minuten p. i.) auf, an dem seine pharmakologische Wirkung, sicht- und meßbar, am Effekt der Pupillenerweiterung, der sich nach 5 - 10 Minuten zeigt, bereits wieder abgeklungen ist (15). Das Adrenalin kann also anscheinend nicht direkt die Hyaluronidasehemmung bewirken. Die Vermutung, daß der Effekt auf einer Gegenregulation beruhe und somit keine primär sympathicotone, sondern eine vagotone Reaktion sei, läßt sich durch Applikation von Acetylcholin an adrenaletomierten Tieren nicht bestätigen, da hierbei keine Hyaluronidasehemmung auftritt (18). Es kann auch nicht angenommen werden, daß für das Zustandekommen der Hemmung eine Latenzzeit nach der Adrenalininjektion oder nach der Adrenalinausschüttung nötig sei, oder daß erst Adrenalinabbauprodukte wirksam würden, da eine Adrenalin-Dauerinfusion über 2 Stunden an adrenaletomierten Tieren keine Hyaluronidasehemmung ergab (19). Die Tiere wurden hierbei adrenaletomiert, um reaktive Markeinflüsse auszuschalten. Dagegen trat in diesem Versuch die Hemmung nach Absetzen der Adrenalin-Infusion auf. Das liefert einen Hinweis dafür, daß der Hyaluronidasehemmung ein dynamischer Effekt zu Grunde liegt, indem das Absinken des zunächst erhöhten Katecholaminspiegels die Hyaluronidasehemmung auslöst. Bei einer Adrenalin-Dauerinfusion mit gelegentlichen zusätzlichen Injektionen trat die Hyaluronidasehemmung bereits im Anschluß an die Spitzen auf (19). Das bedeutet, daß auch ein Abfall des Katecholamin-Blutspiegels auf ein primär schon erhöhtes Niveau hyaluronidasehemmend wirksam ist. Bei Hemmung der Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark durch monoaminoxidasehemmende Substanzen, die ein Absinken des Katecholamin-Spiegels unter das Normal-Niveau bewirken, trat ebenfalls eine Hemmung ein (20). Daraus kann gefolgert werden, daß jeder Abfall

eines Katecholaminspiegels zu einer Hyaluronidasehemmung führt. Dagegen tritt bei Erhöhung des Katecholamin-Spiegels keine Hyaluronidasehemmung auf (19). Welcher Mechanismus durch den Abfall in Gang gesetzt wird, ist bis jetzt noch nicht bekannt. Weitere Versuche lassen auch auf eine Beteiligung anderer körpereigener Substanzen, wie Heparin und Histamin, die in vivo, bzw. Heparin, auch in vitro eine Hyaluronidasehemmung bewirken, schließen (21).

Es wurde nun weiter untersucht, welche Wirkung auf die Hyaluronidaseaktivität Substanzen, die die hyaluronidasehemmende Wirkung anderer Stoffe blockieren, für sich allein aufweisen. Dabei zeigte das Ergotamin das merkwürdige Verhalten, daß es, obwohl es die Hyaluronidasehemmung anderer Substanzen aufhebt, allein angewandt, ebenfalls eine Hyaluronidasehemmung verursacht (22). Pendiomid verhält sich anders, allerdings liegen hierfür erst wenige Versuchsreihen vor. Wie oben angeführt blockiert Pendiomid die hyaluronidasehemmende Wirkung anderer Substanzen nur über eine Blockade des Nebennierenmarkes, nicht dagegen peripher. Bei alleiniger Anwendung tritt anscheinend keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auf (23). Hinweise für seinen Wirkungsmechanismus können aber folgende Versuche geben. Acetylcholin z.B. bewirkt bei intakten Ratten eine Hyaluronidasehemmung, nicht dagegen bei adrenaletomierten, da es zwar eine Adrenalinausschüttung auslöst, dies jedoch im Sinne einer Gegenregulation und nicht im Sinne einer Stimulierung des Nebennierenmarkes (18). Die dadurch verursachte Hyaluronidasehemmung kann durch Ergotamin, nicht aber durch Pendiomid blockiert werden (24). Das spricht dafür, daß das Pendiomid nicht die Basalsekretion hemmt, eventuell sogar gar keine Einwirkung auf den Normal-Katecholamin-Spiegel hat, sondern nur die Aktivierung des Nebennierenmarkes unterbindet.

In vorliegender Arbeit sollten die Latenzzeiten des Ergotamins hinsichtlich seiner blockierenden Wirkung auf den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins getestet werden. Es wurde versucht festzustellen, wie lange das Ergotamin vor Gabe des Adrenalins braucht, um seinen hemmenden Einfluß auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins auszuüben.

Außerdem sollte nachgeprüft werden, ob die bisherigen Versuche dieses hemmenden Einflusses auf die hemmende Wirkung des Adrenalins sich bestätigen lassen, da von VOGEL, UEBEL und MAREK (25) dieser Einfluß verneint wird. Diese Autoren applizierten das Adrenalin 1/4 stündlich subcutan, beginnend 30 Minuten vor der Testung, und das Ergotamin 10 Minuten nach der ersten Adrenalin-Gabe. Sie haben also nicht unbedingt die Voraussetzung einer einmaligen Adrenalin-Dosierung erfüllt und andererseits etwaige Anlaufzeiten des Ergotamins nicht hinreichend berücksichtigt.

In den folgenden Versuchen wurde Adrenalin subcutan injiziert, um festzustellen, ob etwaige Unterschiede zwischen einer subcutanen und einer intravenösen Injektion bestehen und ob eine einmalige subcutane Injektion durch langsamere Resorption aus der Subcutis vielleicht einen nicht genügend hohen Anstieg des Blutspiegels bewirkt.

EIGENE VERSUCHE

Versuchsanordnung

Zur Beobachtung der Hyaluronidase-Wirkung und ihrer Aktivitätsänderung durch die zu untersuchenden Substanzen, bedienten wir uns des Spreading-Testes. Hierbei werden bemessene Farbstoff-Quaddeln und bemessene Farbstoff-Quaddeln mit Hyaluronidasezusatz streng intracutan in die Bauchhaut injiziert, ihre Ausbreitung 10 Minuten später gemessen und quantitativ miteinander verglichen.

Die Versuche wurden an männlichen weißen Ratten im Gewicht zwischen 160 und 250 g durchgeführt. In die mit Pilca enthaarte Bauchhaut wurden Farbstoff-quaddeln mit 0,1 ccm Evansblau gesetzt. Die 0,6 %ige Stammlosung wurde dazu im Verhältnis 1 : 10 verdünnt. Die Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurde aus 150 IE Kinetin, eine trockene Hyaluronidase, und 2 ccm obigen verdünnten Farbstoffes hergestellt und ebenfalls in einer Menge von 0,1 ccm injiziert. Somit kamen 7,5 IE Hyaluronidase pro Quaddel zur Wirkung. 10 Minuten nach der jeweiligen Injektion wurden die Quaddeln auf einen durchsichtigen Celluloid-Streifen übertragen und planimetrisch in Quadratmillimeter ausgemessen.

Insgesamt konnten 6 Quaddeln, also 3 Farbstoff- und 3 Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln pro Tier gesetzt werden. Die Lokalisation der einzelnen Quaddeln wurde nach dem lateinischen Quadrat (s. u.) ermittelt. Hierbei bedeutet 1 und 2 die Lokalisation unterhalb des rechten bzw. linken Rippenbogens, 3 und 4 auf der rechten bzw. linken Mitte, 5 und 6 oberhalb der rechten bzw. linken Leistenbeuge des Tieres.

Zur Narkose diente nach kurzem einleitenden Ätherrausch Evipan (0,02 g/100 g Tier) für die Versuchsreihen mit Versuchszeiten von 35' und 45'. Luminalnatrium (0,0088 g/100 g Tier) zusätzlich für die Versuchsreihen mit Versuchszeiten von 15' und 90', da die Wirkung von Evipan nicht bis 90 Minuten andauert.

Versuchsreihen

Bei jedem Versuchstier wurde vor Applikation von Ergotamin und Adrenalin eine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt, um eine Vergleichsmöglichkeit für eine etwaige Änderung des Farbstoffspreadings durch die zu untersuchenden Substanzen am selben Tier zu haben (Leerwert). Danach wurde das Ergotamin und das Adrenalin subcutan injiziert, und zwar das Ergotamin grundsätzlich vor dem Adrenalin. Der zeitliche Abstand zwischen der Applikation beider Substanzen wurde von Versuchsreihe zu Versuchsreihe sukzessiv gesteigert. Jede dieser Versuchsreihen gliedert sich wieder in zwei Teilversuchsreihen a) und b), die sich hinsichtlich der Zeitpunkte unterscheiden, zu denen die Setzung der Quaddelpaare (Farbstoff-Quaddel und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel) ab Applikation von Adrenalin vorgenommen wurde (Versuchszeiten).

Teilversuchsreihe a): Versuchszeiten 05' und 45'

Teilversuchsreihe b): Versuchszeiten 15' und 90'

Das Ergotamin lag in Form von Gynergen (Ergotamintartrat) vor und wurde in einer Menge von 0,8 mg/100 g Tier verwandt. Adrenalin wurde in einer Menge von 1 μ /100 g Tier verwandt, da, wie frühere Versuche zeigen, bei dieser Dosis die maximale Hemmung rasch eintritt und etwas stärker ist, als es bei höheren Dosen der Fall ist, andererseits die Mindestmenge zur Auslösung einer Wirkung überschritten ist.

Versuchsreihe 1

Leer-Wert

Ergotamin-Gabe unmittelbar vor Adrenalin-Applikation

a) 05' und 45' nach Adrenalin-Gabe wurde jeweils ein Quaddelpaar gesetzt.

b) 15' und 90' nach Adrenalin-Gabe wurde jeweils ein Quaddelpaar gesetzt.

Einzelwerte siehe Tabelle 1a und 1b.

Versuchsreihe 2

Leer-Wert

Ergotamin-Applikation 10' vor Adrenalin-Applikation

a) nach 05' und 45' Quaddelpaar-Setzung

b) nach 15' und 90' Quaddelpaar-Setzung

Einzelergebnisse siehe Tabelle 2a und 2b.

Versuchsreihe 3

Leer-Wert

Ergotamin-Applikation 20' vor Adrenalin-Applikation

a) nach 05' und 45' Quaddelpaar-Setzung

b) nach 15' und 90' Quaddelpaar-Setzung

Einzelergebnisse siehe Tabelle 3a und 3b.

Versuchsreihe 4

Leer-Wert

Ergotamin-Applikation 30' vor Adrenalin-Applikation

a) nach 05' und 45' Quaddelpaar-Setzung

b) nach 15' und 90' Quaddelpaar-Setzung

Einzelergebnisse siehe Tabelle 4a und 4b.

Versuchsreihe 5

Leer-Wert

Ergotamin-Applikation 40' vor Adrenalin-Applikation

a) nach 05' und 45' Quaddelpaar-Setzung

b) nach 15' und 90' Quaddelpaar-Setzung

Einzelergebnisse siehe Tabelle 5a und 5b.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Mathematisch-statistisches Modell und statistische Methodik

Innerhalb jeder Versuchsreihe bzw. Teil-Versuchsreihe wurden je 6 Versuchstiere unter gleichen experimentellen Bedingungen untersucht. Bei jedem Versuchstier wurden 6 Quaddeln unter 6 verschiedenen Bedingungen gesetzt und hinsichtlich ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit 10' nach dem Setzen ausgemessen; der angegebene Meßwert bezieht sich auf die Fläche der Quaddeln zu diesem Zeitpunkt nach dem Setzen, ausgedrückt in mm^2 .

Die 6 Quaddeln je Versuchstier unterscheiden sich einmal hinsichtlich ihres Typus, reine Farbstoff-Quaddel bzw. Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel, zum anderen hinsichtlich des Zeitpunktes innerhalb des Versuches, zu dem sie gesetzt wurden. Für jeden Quaddel-Typus wurde zunächst vor der Applikation einer Substanz eine Kontroll-Quaddel gesetzt; außerdem zu 2 festgesetzten Zeitpunkten nach Applikation einer Prüfsubstanz, den sog. Versuchszeiten, nochmals je eine Quaddel. Wir bezeichnen diese 6 verschiedenen Quaddeln als die "Verfahren" des Versuches.

Da jede Quaddel an einer anderen Stelle der Bauchhaut des Versuchstieres gesetzt werden muß, hat jedes Verfahren auf diesem Versuchsfeld (nämlich der Bauchhaut der Versuchstiere) eine andere Lokalisation. Um systematische Effekte dieser Lokalisationen auszuschalten, wurden die 6 Verfahren den 6 möglichen Lokalisationen mit Hilfe eines "Lateinischen Quadrates" so zugeteilt, daß innerhalb der Gruppe von 6 Versuchstieren jedes Verfahren auf jeder Lokalisation genau einmal angewendet wurde.

Entsprechend dieser Versuchsanordnung legten wir der statistischen Auswertung ein lineares statistisches Modell mit festen Effekten zugrunde, wobei wir folgende systematische Faktoren berücksichtigten:

Versuchstiere	(Index i),
Verfahren	(Index j),
Lokalisationen	(Index k).

Bezeichnet x_{ijk} den am i-ten Versuchstier unter dem j-ten Verfahren in der k-ten Lokalisation beobachteten Meßwert, so wird in dem linearen statistischen Modell angenommen, daß sich dieser Meßwert in der Form

$$x_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \epsilon_{ijk}, \quad i, j, k = 1, 2 \dots 6,$$

darstellen läßt. α_i , β_j , γ_k sind hierin Konstante, die bzw. nur von dem Versuchstier, dem Verfahren, der Lokalisation abhängen und den Einfluß dieser systematischen Faktoren auf den Meßwert ausdrücken. μ , das sog. Generalmittel, ist eine rein rechnerische Größe, die auf die statistische Interpretation der Meßergebnisse keinen Einfluß besitzt.

Von der Größe ϵ_{ijk} , welche die Abweichung zwischen dem beobachteten

Meßwert x_{ijk} und dem "Erwartungswert" $\alpha_i + \beta_j + \gamma_k$ ausdruckt, wird vorausgesetzt, daß sie normalverteilt ist mit dem Erwartungswert $E(x_{ijk}) = 0$ und der Streuung $\sigma = \sigma(x_{ijk})$, wobei σ nicht von den Indizes i, j, k abhängen soll. Die Streuung bzw. die Varianz σ^2 bringt denjenigen Anteil der Variabilität der Meßwerte zum Ausdruck, der nicht auf die systematischen Faktoren zurückgeführt werden kann. Dementsprechend ist σ bzw. σ^2 als Versuchsstreuung bzw. Versuchsvariabilität anzusehen und ein Maß für die Präzision des Versuches.

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung ist die Schätzung der Parameter des Modelles und der Varianz σ^2 . Die Parameter $\alpha_i, \beta_j, \gamma_k$ sind allerdings nicht direkt schätzbar; schätzbar ist nur ihre Abweichung vom Generalmittel und damit auch die Differenz zwischen den Werten des gleichen Parameters, die zu verschiedenen Stufen des zugehörigen systematischen Faktors gehören. Die Schätzungen selber werden nach der Methode der kleinsten Quadrate vorgenommen.

Die Schätzung der Varianz σ^2 erfolgt im Rahmen einer mehrfachen Varianz-Analyse, bei der verschiedene Hypothesen über die Parameter geprüft werden. Sie ergibt sich dort als das MAQ der Rest-Varianz.

In den Varianz-Analysen wird durch den Vergleich bestimmter Varianz-Komponenten mit der Rest-Varianz, d. h. mit der Schätzung von σ^2 , das Verhalten der Konstanten des statistischen Modells geprüft, und zwar werden die nachstehenden Hypothesen mit den angegebenen Varianz-Komponenten geprüft:

- Hypothese: $\alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_6$
mittels der Varianz-Komponente "Zwischen Tieren";
- Hypothese: $\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_6$
mittels der Varianz-Komponente "Zwischen Verfahren";
- Hypothese: $\gamma_1 = \gamma_2 = \dots = \gamma_6$
mittels der Varianz-Komponente "Zwischen Lokalisationen".

Für die Interpretation der Versuchsergebnisse ist nur die Hypothese über die Parameter β_j von Bedeutung, da in ihr das Verhalten der 6 Quaddeln unter den verschiedenen Bedingungen des Versuches geprüft wird. Etwaige Unterschiede zwischen den Parametern β_j können dabei durch verschiedene Faktoren bedingt sein:

1. Unterschiede in der Ausbreitung der beiden Quaddel-Typen generell;
2. Unterschiede in der Ausbreitung der Kontroll-Quaddel und den Quaddeln zu den Versuchszeiten innerhalb jedes Quaddeltypus;
3. Unterschiede zwischen der Ausbreitung der Quaddeln zu den beiden Versuchszeiten innerhalb jedes Quaddeltypus.

Aus methodischen Gründen lassen sich nur diese Faktoren dahingehend prüfen, ob sie für Unterschiede in der Ausbreitung der Quaddeln verantwortlich sind. Dies geschieht ebenfalls in den Varianz-Analysen durch eine orthogonale Zerlegung der Varianz-Komponente "Zwischen Verfahren". Es werden hierzu die Varianz-Komponenten

1. "Zwischen Quaddel-Typen";
2. "Zwischen Kontrolle und Versuchszeiten (F) bzw. (FH)";
3. "Zwischen Versuchszeiten",

die in dieser Reihenfolge zu den oben angeführten Faktoren gehören, mit der Rest-Varianz verglichen.

Der Vergleich der Varianz-Komponenten mit der Rest-Varianz geschieht durch den F-Test. Wenn der hierbei ermittelte Prüf-Wert $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer als 5 % bzw. 1 % bzw. 0,1 % ist, so ist die betreffende Varianz-Komponente statistisch schwach, ausreichend bzw. stark gesichert größer als die Rest-Varianz. Nur in diesem Falle liegt ein statistisch gesicherter Einfluß des zugehörigen systematischen Faktors vor.

Zur Kennzeichnung des Verhaltens der Quaddeln zu den Versuchszeiten gegenüber den zugehörigen Kontrollen bedienen wir uns der "Mittelwerts-Differenz" $\delta(t)$: ist $\bar{x}(K)$ der Mittelwert aller Kontrollen eines Quaddel-Typus, $\bar{x}(t)$ der Mittelwert aller Meßwerte zur Versuchszeit t des gleichen Quaddel-Typus (jeweils als Mittelwert über die 6 Versuchstiere bestimmt), so ist

$$\delta(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K).$$

$\delta(t)$ ist dabei ein Schätzwert für die Differenz zwischen den Konstanten β_j , die zur Kontrolle bzw. Versuchszeit t dieses Quaddel-Typus gehören.

Eine statistisch gesicherte Veränderung eines Quaddel-Typus zum Zeitpunkt t gegenüber der zugehörigen Kontrolle liegt nur vor, wenn $\delta(t)$ statistisch gesichert von Null verschieden ist. Dies wird ebenfalls in den Varianz-Analysen mittels der orthogonalen Zerlegung der Varianz-Komponente "Zwischen Verfahren" geprüft. Auch hier wird angegeben, mit welcher Sicherheit bzw. Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden kann, daß $\delta(t) = 0$ ist.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung haben wir in den Tabellen zusammengefaßt.

Im oberen Teil der Tabellen sind die Varianz-Analysen angegeben. Es bedeutet hierin

SAQ:	Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
MAQ:	Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
n:	Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
$F_{emp.}$:	Varianz-Quotient zwischen der Varianz-Komponenten und der Rest-Varianz (nur angegeben, wenn die Varianz-Komponente zahlenmäßig größer als die Rest-Varianz ist);
p:	Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung, zugleich Irrtumswahrscheinlichkeit beim Verwerfen der zugehörigen Hypothese (nur angegeben, wenn $p < 5,0$ % ist).

Am Fuße der Varianz-Analyse haben wir die aus der Rest-Varianz ermittelte Versuchsstreuung s (Schätzung für σ) angegeben; aus ihr wurden die Vertrauensintervalle für die Mittelwerte und die Mittelwertsdifferenzen errechnet.

Im zweiten Teil der Tabelle sind für jede Versuchsstufe (Verfahren) die Mittelwerte aus den Beobachtungen an allen 6 Tieren angegeben, einschließlich der zugehörigen 95 %-Vertrauensintervalle (Spalte $\bar{x}$). Die Spalte $j(t)$ enthält die Mittelwertsdifferenzen ebenfalls einschließlich der zugehörigen 95 %-Vertrauensintervalle. In der Spalte "Sicherung" wurde angegeben, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit die Aussage, daß $j(t) = 0$ sei, behaftet ist (nur angegeben, wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit nicht größer als 5 % ist). Die Spalte "Hemmung" schließlich enthält die in üblicher Weise prozentualisierte Hemmung.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

In keiner Versuchsreihe konnte eine statistisch gesicherte Abweichung der reinen Farbstoff-Quaddel zu den Versuchszeiten gegenüber der zugehörigen Kontrolle beobachtet werden. Es genügt somit, weiterhin nur das Verhalten der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel zu diskutieren.

Versuchsreihe 1

Hier liegt zu allen Zeitpunkten eine statistisch gesicherte Hemmung der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel vor, sie ist für die Zeitpunkte von 5' bis 45' sogar hochgesichert.

Versuchsreihe 2

Hier sind die Ergebnisse analog zu der Versuchsreihe 1; allerdings sind nur die Hemmungen zu den Zeitpunkten 5' und 15' hochgesichert.

Versuchsreihe 3

Hier liegen lediglich für die Zeitpunkte 15' und 90' statistisch schwach gesicherte Hemmungen der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddeln vor; da die Versuchsvariabilität in der Teilversuchsreihe b extrem niedrig ist, war die Sicherung der an sich kleinen Mittelwertsdifferenzen von -9 mm^2 zu diesen Zeitpunkten möglich. Sie sind jedoch durchweg kleiner als die entsprechenden Mittelwertsdifferenzen der Versuchsreihen 1 und 2.

Versuchsreihe 4

Hier liegen für alle Zeitpunkte bis 45' statistisch ausreichend bis hoch gesicherte Hemmungen der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel vor.

Versuchsreihe 5

Hier liegen zu den Zeitpunkten 5' bzw. 45' hoch bzw. schwach gesicherte Hemmungen der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel vor.

Zusammenfassende Bewertung der Versuchsreihen 1 - 5

Bis zur Versuchsreihe 3 macht sich eine deutlich abnehmende Hemmung der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel zu entsprechenden Versuchszeiten mit zunehmendem Abstand zwischen den Applikationen von Ergotamin und Adrenalin bemerkbar.

Die Versuchsreihen 4 und 5 passen sich diesem Trend nicht an, sie weisen beide zu den Zeitpunkten 5' und 45' annähernd gleiche, statistisch gesicherte Hemmungen auf. Zu den Zeitpunkten 15' und 90' verhalten sich dagegen diese beiden Versuchsreihen unterschiedlich.

Bemerkung zur Versuchsvariabilität

Die Versuchsvariabilität, d. h. das MAQ der Rest-Varianz der Varianz-Analysen, ist bei den vorliegenden Versuchen im allgemeinen nicht sehr groß; sie ist allerdings in statistisch gesicherter Weise unterschiedlich für die einzelnen Versuchsreihen. Es ist zu vermuten, daß dies mit der jeweiligen Versuchsanordnung zusammenhängt, die eine mehr oder minder gleichartige Reaktion der Tiere mit sich bringt, andererseits kann darin auch ein Übungseffekt zum Ausdruck kommen.

Im Mittel über alle Versuchsreihen beträgt die Versuchsstreuung

$$s = 9,43 \text{ mm}^2.$$

Für Mittelwerte aus 6 Tieren ergibt sich hieraus ein 95 %-Vertrauensintervall von

$$\pm 7,55 \text{ mm}^2,$$

und für Mittelwertsdifferenzen aus Mittelwerten aus je 6 Tieren ein Vertrauensintervall von

$$\pm 10,66 \text{ mm}^2.$$

Die Methode kann somit, im Hinblick darauf, daß es sich um eine biologische Methode handelt, als sehr genau angesehen werden (Die Vertrauensintervalle sind wesentlich kleiner als 10 % der zugehörigen Mittelwerte).

Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Versuchsreihe 1 zeigen zu allen Zeitpunkten eine Hyaluronidasehemmung, die allerdings gegen die Versuchszeit von 90 Minuten hin deutlich abnimmt.

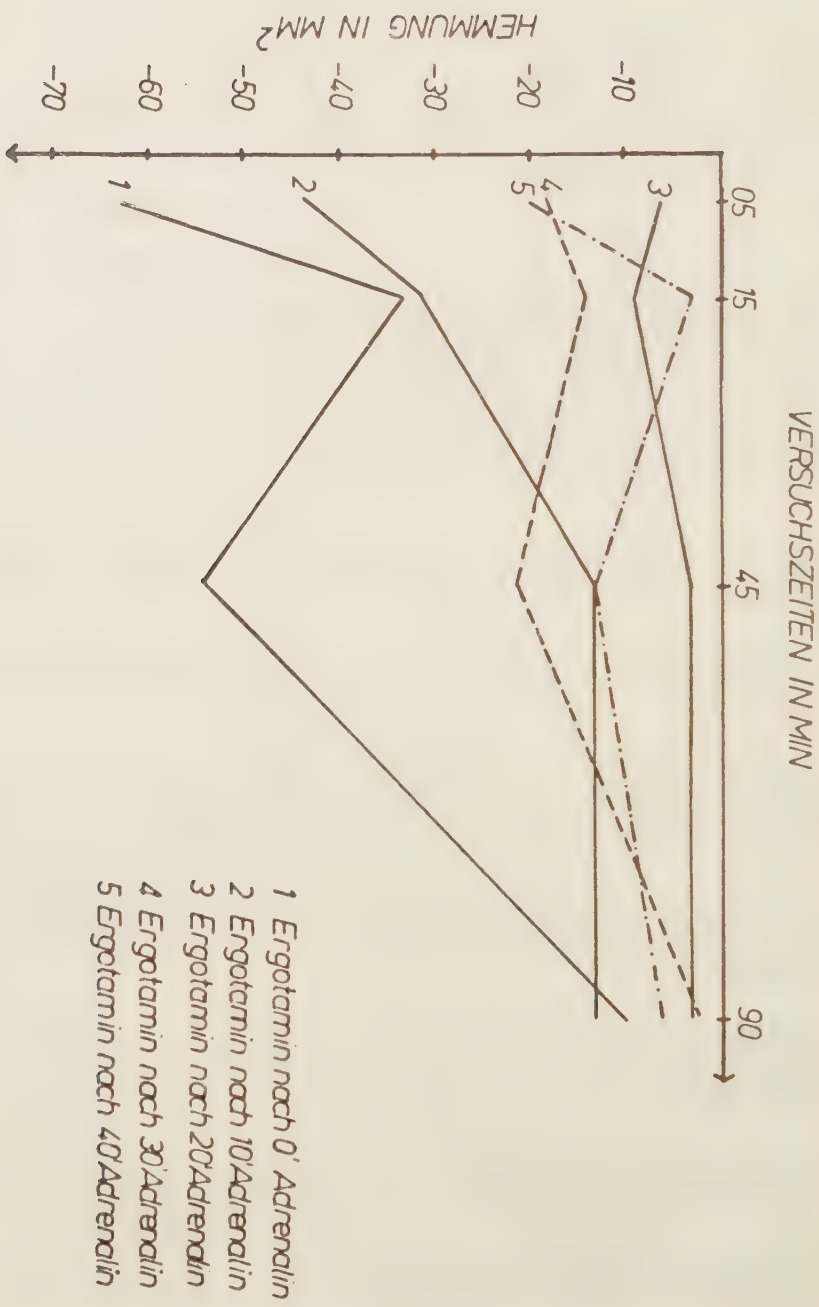
Die Ergebnisse der Versuchsreihe 2 zeigen zu allen Zeitpunkten eine Hyaluronidasehemmung, deren Werte jedoch geringer als die der Versuchsreihe 1 sind.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe 3 zeigen ein weiteres Absinken der Werte der Hyaluronidasehemmung gegenüber den Versuchsreihen 1 und 2.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe 4 zeigen ein Wiederansteigen der Werte der Hyaluronidasehemmung gegenüber der Versuchsreihe 3. Die Werte bleiben aber zu allen Zeitpunkten unter denen der Versuchsreihe 1 und 2.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe 5 zeigen zwar höhere Werte der Hyaluronidasehemmung als die der Versuchsreihe 3, jedoch geringere als die der Versuchsreihe 4.

Abbildung und Tabellen



Versuchsreihe 1a

Ergotamin unmittelbar vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		5' nach Adrenalin-Gabe		45' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	190	123	220	134	147	135	160
2	190	130	227	138	160	128	159
3	180	149	230	137	170	131	164
4	190	136	235	136	167	147	180
5	190	141	195	140	130	137	180
6	200	121	215	120	166	124	152

Lokalisation

1	1	5	3	2	6	4
2	2	4	5	6	3	1
3	6	1	4	3	5	2
4	3	2	1	5	4	6
5	5	6	2	4	1	3
6	4	3	6	1	2	5

TABELLE 1a

Versuchsreihe 1b

Ergotamin unmittelbar vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		15' nach Adrenalin-Gabe		90' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	210	116	218	108	185	118	221
2	230	126	218	114	192	118	222
3	200	111	220	118	190	110	219
4	190	125	219	110	190	108	203
5	190	115	240	120	186	121	212
6	200	138	231	140	200	129	204

Lokalisation

1	1	3	6	2	5	4
2	6	1	4	5	3	2
3	4	6	2	3	1	5
4	2	4	5	1	6	3
5	5	2	3	6	4	1
6	3	5	1	4	2	6

TABELLE 1b

Versuchsreihe 1a

Ergotamin unmittelbar vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1.301	260	2,01	-
Zwischen Verfahren	5	34.286	6.857	52,87	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	160	32	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	20.069	20.069	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(F)	1	1	1	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	1	1	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	13.963	13.963	100,00	0,1 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	252	252	1,94	-
Rest-Varianz	20	2.593	130		
Gesamt-Varianz	35	38.340	1.095		

Versuchsstreuung: s = 11,4 mm²

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	133 + 9,7			
FH _v	220 + 9,7			
F _{5'}	134 + 9,7	+ 1 + 13,7	-	-
FH _{5'}	157 + 9,7	- 63 + 13,7	0,1 %	73,6 %
F _{45'}	134 + 9,7	+ 1 + 13,7	-	-
FH _{45'}	166 + 9,7	- 54 + 13,7	0,1 %	63,0 %

TABELLE 1c

Versuchsreihe 1b

Ergotamin unmittelbar vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	817	163	2,77	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	77.000	15.400	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	374	75	1,27	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	73.351	73.351	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	64	64	1,09	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	3	3	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	1.995	1.995	33,87	0,1 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	1.587	1.587	26,94	0,1 %
Rest-Varianz	20	1.177	59		
Gesamt-Varianz	35	79.368	2.268		

Versuchsstreuung: s = 7,7 mm²

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta^2(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	122 + 6,5			
FH _v	224 + 6,5			
F _{15'}	118 + 6,5	- 4 + 9,2	-	-
FH _{15'}	191 + 6,5	- 33 + 9,2	0,1 %	32,2 %
F _{90'}	117 + 6,5	- 5 + 9,2	-	-
FH _{90'}	214 + 6,5	- 10 + 9,2	5,0 %	10,3 %

TABELLE 1d

Versuchsreihe 2a

Ergotamin 10 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		5' nach Adrenalin-Gabe		45' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	190	120	200	128	164	113	204
2	230	119	215	120	158	130	220
3	210	118	220	110	180	124	215
4	200	120	228	120	182	115	200
5	250	110	230	135	184	118	198
6	180	110	235	115	200	122	210
<u>Lokalisation</u>							
1		2	5	1	3	6	4
2		3	6	2	5	4	1
3		5	4	3	6	1	2
4		6	1	5	4	2	3
5		4	2	6	1	3	5
6		1	3	4	2	5	6

TABELLE 2a

Versuchsreihe 2b

Ergotamin 10 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		15' nach Adrenalin-Gabe		90' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	210	119	196	110	180	115	190
2	210	112	225	125	186	108	210
3	200	120	226	111	188	114	207
4	200	115	210	112	179	118	208
5	210	114	220	112	200	105	196
6	200	125	228	120	190	128	220

Lokalisation

1	2	3	4	5	6	1
2	1	6	2	4	5	3
3	3	5	1	2	4	6
4	6	4	3	1	2	5
5	5	2	6	3	1	4
6	4	1	5	6	3	2

TABELLE 2b

Versuchsreihe 2a

Ergotamin 10 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	356	71	-	-
Zwischen Verfahren	5	68,157	13,631	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	818	164	1,76	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	62,167	62,167	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	87	87	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	3	3	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	3,230	3,230	34,73	0,1 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	2,670	2,670	28,71	0,1 %
Rest-Varianz	20	1,860	93		
Gesamt-Varianz	35	71,191	2,034		

Versuchsstreuung: $s = 9,6 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	δ (t) (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	116 + 8,2			
FH _v	221 + 8,2			
F _{5'}	121 + 8,2	+ 5 + 11,6	-	-
FH _{5'}	178 + 8,2	- 43 + 11,6	0,1 %	42,5 %
F _{45'}	120 + 8,2	+ 4 + 11,6	-	-
FH _{45'}	208 + 8,2	- 13 + 11,6	5,0 %	13,2 %

TABELLE 2c

Versuchsreihe 2b

Ergotamin 10 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	920	184	4,08	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	71.869	14.374	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	416	83	1,84	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	69.081	69.081	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(F)	1	28	28	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	0	0	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	1.806	1.806	40,04	0,1 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	954	954	21,15	0,1 %
Rest-Varianz	20	902	45		
Gesamt-Varianz	35	74.107	2.117		

Versuchsstreuung: $s = 6,7 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	118 $\pm$ 5,7			
FH _v	218 $\pm$ 5,7			
F _{15'}	115 $\pm$ 5,7	- 3 $\pm$ 8,1	-	-
FH _{15'}	187 $\pm$ 5,7	- 31 $\pm$ 8,1	0,1 %	29,6 %
F _{90'}	115 $\pm$ 5,7	- 3 $\pm$ 8,1	-	-
FH _{90'}	205 $\pm$ 5,7	- 13 $\pm$ 8,1	5,0 %	12,1 %

TABELLE 2d

Versuchsreihe 3a

Ergotamin 20 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		5' nach Adrenalin-Gabe		45' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	230	120	190	120	194	126	188
2	230	125	180	122	173	120	182
3	200	117	191	121	180	115	189
4	220	120	200	117	192	128	204
5	220	119	192	119	195	100	179
6	170	124	244	112	228	121	240

Lokalisation

1	6	2	4	3	5	1
2	4	5	1	6	3	2
3	1	3	2	4	6	5
4	2	6	5	1	4	3
5	5	4	3	2	1	6
6	3	1	6	5	2	4

TABELLE 3a

Versuchsreihe 3b

Ergotamin 20 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		15' nach Adrenalin-Gabe		90' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	205	126	219	125	195	115	198
2	190	120	211	115	214	131	212
3	195	122	210	112	210	120	209
4	180	112	200	120	185	111	182
5	180	137	222	121	208	140	208
6	180	135	228	130	223	124	225

Lokalisation

1	3	4	2	1	6	5
2	2	6	4	5	1	3
3	4	1	6	3	5	2
4	6	5	1	2	3	4
5	1	3	5	4	2	6
6	5	2	3	6	4	1

TABELLE 3b

Versuchsreihe 3a

Ergotamin 20 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	3.364	673	3,87	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	54.181	10.836	62,28	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	749	150	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	54.056	54.056	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	23	23	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	0	0	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	69	69	-	-
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	33	33	-	-
Rest-Varianz	20	3.479	174		
Gesamt-Varianz	35	61.773	1.765		

Versuchsstreuung: $s = 13,2 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\sigma(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	121 $\pm$ 11,2			
FH _v	200 $\pm$ 11,2			
F _{5'}	119 $\pm$ 11,2	- 2 $\pm$ 15,9	-	-
FH _{5'}	194 $\pm$ 11,2	- 6 $\pm$ 15,9	-	7,3 %
F _{45'}	118 $\pm$ 11,2	- 3 $\pm$ 15,9	-	-
FH _{45'}	197 $\pm$ 11,2	- 3 $\pm$ 15,9	-	3,1 %

TABELLE 3c

Versuchsreihe 3b

Ergotamin 20 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,383	476	9,22	0,1 %
Zwischen Verfahren	5	66,548	13,310	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	299	60	1,16	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	66,135	66,135	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	44	44	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	27	27	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	342	342	6,62	5,0 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	0	0	-	-
Rest-Varianz	20	1,033	52		
Gesamt-Varianz	35	70,263	2,008		

Versuchsstreuung: $s = 7,2 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta'(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	125 + 6,1			
FH _v	215 + 6,1			
F _{15'}	121 + 6,1	- 4 + 8,7	-	-
FH _{15'}	206 + 6,1	- 9 + 8,7	5,0 %	10,0 %
F _{90'}	124 + 6,1	- 1 + 8,7	-	-
FH _{90'}	206 + 6,1	- 9 + 8,7	5,0 %	10,0 %

TABELLE 3d

Versuchsreihe 4a

Ergotamin 30 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		5' nach Adrenalin-Gabe		45' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	200	119	216	119	218	125	191
2	180	119	195	115	195	115	198
3	230	115	240	128	212	134	195
4	230	118	239	119	197	122	204
5	160	120	233	111	214	116	206
6	180	128	219	112	198	113	222

Lokalisation

1	4	1	3	6	5	2
2	3	5	6	2	4	1
3	6	4	2	1	3	5
4	2	3	1	5	6	4
5	1	6	5	4	2	3
6	5	2	4	3	1	6

TABELLE 4a

Versuchsreihe 4b

Ergotamin 30 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		15' nach Adrenalin-Gabe		90' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	200	118	205	128	212	123	211
2	170	119	219	128	196	131	212
3	160	129	214	124	188	137	214
4	190	130	220	129	214	133	225
5	180	133	220	122	207	128	210
6	230	132	210	119	187	124	205
<u>Lokalisation</u>							
1		1	5	6	4	3	2
2		4	3	5	6	2	1
3		6	2	3	5	1	4
4		5	1	2	3	4	6
5		3	4	1	2	6	5
6		2	6	4	1	5	3

TABELLE 4b

Versuchsreihe 4a

Ergotamin 30 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	692	138	1,53	-
Zwischen Verfahren	5	76,663	15,333	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	707	141	1,57	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	75,076	75,076	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	2	2	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	37	37	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	1,521	1,521	16,86	0,1 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	27	27	-	-
Rest-Varianz	20	1,804	90		
Gesamt-Varianz	35	79,866	2,282		

Versuchsstreuung: $s = 9,5 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	120 + 8,1			
FH _v	224 + 8,1			
F _{5'}	117 + 8,1	- 3 + 11,4	-	-
FH _{5'}	206 + 8,1	- 18 + 11,4	0,1 %	17,8 %
F _{45'}	121 + 8,1	+ 1 + 11,4	-	-
FH _{45'}	203 + 8,1	- 21 + 11,4	0,1 %	20,7 %

TABELLE 4c

Versuchsreihe 4b

Ergotamin 30 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	513	103	2,36	-
Zwischen Verfahren	5	61.760	12.352	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	194	39	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	61.009	61.009	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(F)	1	0	0	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	56	56	1,29	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	251	251	5,78	5,0 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	444	444	10,23	1,0 %
Rest-Varianz	20	867	43		
Gesamt-Varianz	35	63.334	1.810		

Versuchsstreuung: $s = 6,6 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\delta(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	127 + 5,6			
FH _v	215 + 5,6			
F _{15'}	125 + 5,6	- 2 + 7,9	-	-
FH _{15'}	201 + 5,6	- 14 + 7,9	1,0 %	16,0 %
F _{90'}	129 + 5,6	+ 2 + 7,9	-	-
FH _{90'}	213 + 5,6	- 2 + 7,9	-	2,1 %

TABELLE 4d

Versuchsreihe 5a

Ergotamin 40 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		5' nach Adrenalin-Gabe		45' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	180	110	200	110	180	119	190
2	180	129	248	127	230	126	231
3	190	108	225	120	201	119	198
4	190	122	217	120	190	109	218
5	160	127	226	132	200	120	220
6	180	118	220	120	215	120	200
<u>Lokalisation</u>							
1		4	1	5	2	6	3
2		2	3	6	1	4	5
3		1	5	4	3	2	6
4		3	6	2	5	1	4
5		5	4	1	6	3	2
6		6	2	3	4	5	1

TABELLE 5a

Versuchsreihe 5b

Ergotamin 40 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Tier Nr.	Gewicht in g	Leerversuch		15' nach Adrenalin-Gabe		90' nach Adrenalin-Gabe	
		FQ	FHQ	FQ	FHQ	FQ	FHQ
1	180	116	208	126	212	119	197
2	180	128	210	130	215	124	207
3	210	132	230	121	229	132	228
4	160	131	228	120	227	122	222
5	190	135	226	126	214	122	220
6	180	129	218	132	210	124	212

Lokalisation

1	6	3	2	1	4	5
2	1	2	4	3	5	6
3	3	4	5	2	6	1
4	2	5	6	4	1	3
5	4	6	1	5	3	2
6	5	1	3	6	2	4

TABELLE 5b

Versuchsreihe 5a

Ergotamin 40 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	3,075	615	7,69	0,1 %
Zwischen Verfahren	5	77,166	15.433	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	176	35	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	75,900	75,900	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	5	5	-	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	21	21	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	1,100	1,100	13,75	1,0 %
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	140	140	1,75	
Rest-Varianz	20	1,599	80		
Gesamt-Varianz	35	82,016	2,343		

Versuchsstreuung: $s = 8,9 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\hat{\sigma}^2(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	119 $\pm$ 7,6			
FH _v	223 $\pm$ 7,6			
F _{5'}	122 $\pm$ 7,6	+ 3 $\pm$ 10,8	-	-
FH _{5'}	203 $\pm$ 7,6	- 20 $\pm$ 10,8	0,1 %	19,4 %
F _{45'}	118 $\pm$ 7,6	- 1 $\pm$ 10,8	-	-
FH _{45'}	210 $\pm$ 7,6	- 13 $\pm$ 10,8	1,0 %	12,8 %

TABELLE 5c

Versuchsreihe 5b

Ergotamin 40 Minuten vor Adrenalin-Applikation

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	886	177	4,80	1,0 %
Zwischen Verfahren	5	75,240	15,048	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	216	43	1,17	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	75,076	75,076	100,00	0,1 %
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	54	54	1,46	-
Zwischen Versuchszeiten (F)	1	12	12	-	-
Zwischen Kontr.u.Vers.Zt. (FH)	1	61	61	1,65	-
Zwischen Versuchszeiten (FH)	1	37	37	1,00	-
Rest-Varianz	20	737	37		
Gesamt-Varianz	35	77,079	2,202		

Versuchsstreuung: $s = 6,1 \text{ mm}^2$

Versuchsstufe	$\bar{x}$ (mm ²)	$\sigma^2(t)$ (mm ²)	Sicherung %	Hemmung %
F _v	129 + 5,2			
FH _v	220 + 5,2			
F _{15'}	126 + 5,2	- 3 + 7,3	-	-
FH _{15'}	218 + 5,2	- 2 + 7,3	-	2,3 %
F _{90'}	124 + 5,2	- 5 + 7,3	-	-
FH _{90'}	214 + 5,2	- 6 + 7,3	-	6,0 %

TABELLE 5d

In einer Arbeit von VOGEL, UEBEL und MAREK (25) wird die hyaluronidase-hemmende Wirkung des Adrenalins und des Ergotamins bestätigt, dagegen glauben die genannten Autoren nicht, daß Ergotamin die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins aufzuheben in der Lage sei. Die Autoren bedienten sich methodisch des Hyaluronidaseödems der Rattenpfote, injizierten alle 15 Minuten 1 γ /100 g Adrenalin subcutan, beginnend 30 Minuten vor der Ödem-Provokation und 0,2 mg/100 g Ergotamin subcutan beginnend 10 Minuten nach der ersten Adrenalin-Injektion. Es ist verständlich, daß bei der gewählten Versuchsanordnung das Sichtbarwerden des adrenolytischen Effektes des Ergotamins auf die Adrenalin-Wirkung nicht zu erwarten ist. Einerseits konnte durch die Untersuchungen der vorgelegten Arbeit gezeigt werden, daß eine Ergotamin-Injektion 20 Minuten vor der Adrenalin-Injektion erforderlich ist, um den lytischen Effekt des Ergotamins voll wirksam werden zu lassen, andererseits erscheint die Methodik des Hyaluronidaseödems insofern nicht geeignet, als sich die Einwirkungen früherer Versuchszeiten auf die Ergebnisse zu späteren Versuchszeiten mitteilen bzw. auswirken können. Das bedeutet, daß die hyaluronidase-hemmende Wirkung der ersten vor der Ergotamin-Gabe erfolgten Adrenalin-Applikation im Verlauf des Pfotenödems durch die spätere Ergotamin-Injektion nicht wieder rückgängig gemacht werden kann. Aus den genannten Gründen erscheint die Aussage von VOGEL und Mitarbeitern als nicht stichhaltig. Auch sind in der Arbeit von VOGEL und Mitarbeitern nicht die gleichen Dosen verabfolgt worden, wie sie von MATHIES gegeben wurden, der das Ergotamin in einer Menge von 0,8 mg/100 g Tier applizierte.

Die Untersuchungen von VOGEL und Mitarbeitern (25) wurden durchgeführt, um die von MATHIES (26) mitgeteilten Ergebnisse zu überprüfen, sie sind jedoch nicht mit einer geeigneten Methodik und Versuchsanordnung vorgenommen worden. Abgesehen von den oben angeführten Abweichungen der Methodik und der Applikationszeiten der Versuchssubstanzen wurden die Versuche mit Adrenalin nicht intravenös, sondern subcutan und nicht mit einmaliger Gabe, sondern mit 1/4stündlicher Injektion durchgeführt. Allerdings zeigen die hier mitgeteilten Ergebnisse, daß Adrenalin bei subcutaner Applikation auch hyaluronidasehemmend wirkt. Ob Abweichungen zwischen einmaliger und 1/4stündlicher Applikation bestehen, kann vorerst nicht angegeben werden, da wir uns bewußt an die einmalige Applikation gehalten haben, weil aus früheren Versuchen von MATHIES (24) bekannt war, daß erst das Absinken des Katecholamin-Blutspiegels nach dessen vorheriger Steigerung die Hyaluronidasehemmung bewirkt. Dagegen hat ein gleichbleibender, wenn auch erhöhter Adrenalin-Blutspiegel, wie Versuche an adrenalektomierten Tieren zeigten, keinen Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test. VOGEL und Mitarbeiter (25) nähern sich mit 1/4stündlicher subcutaner Applikation bereits weit mehr einer gleichbleibenden Erhöhung des Adrenalin-Blutspiegels, wodurch es fraglich erscheint, ob bei dieser Versuchsanordnung nicht eine zusätzliche Adrenalin-

Freisetzung aus dem Nebennierenmark sekundär die Hyaluronidasehemmung bei intakten Tieren hervorruft. Dieser Wirkungsmechanismus wurde durch Versuche von MATHIES und SCHLIERF (19) wahrscheinlich gemacht, da gezeigt werden konnte, daß eine Adrenalin-Dauer-Infusion nur bei intakten im Gegensatz zu adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung verursacht. Es ist bekannt, daß adrenolytische Substanzen, wie z. B. das Ergotamin außer ihrer blockierenden Wirkung auf die Hyaluronidasehemmung anderer Substanzen (Antirheumatica, Katecholamine), allein angewandt selbst hyaluronidasehemmend wirken (22). Das ließe sich eventuell so erklären, daß es bei alleiniger Anwendung auf die im Blut vorhandenen Katecholamine adrenolytisch wirkt und somit ein dynamischer Effekt auftritt, wogegen bei zugeführtem Adrenalin dessen Wirkung blockiert wird, und die Wirkung auf den Normal-Blutspiegel im Sinne einer Senkung dann nicht mehr zum Tragen kommt. Bedingt vergleichbare Verhältnisse liegen beim Regitin-Test vor, wo bei normalem Katecholamin-Blutspiegel die Blutdrucksenkung gering ist, bei pathologisch erhöhter Hormonausschüttung aus dem Nebennierenmark dagegen sehr groß wird. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die hyaluronidasehemmende Wirkung adrenolytischer Substanzen wäre eine reaktive Katecholamin-Freisetzung aus dem Nebennierenmark, die dann allerdings erst zu einem Zeitpunkt nach Abklingen der Ergotamin-Wirkung hyaluronidasehemmend wirksam werden könnte.

In Bezug auf die Latenzzeiten des Ergotamins hinsichtlich seiner blockierenden Wirkung auf den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins ergaben die Versuche vorliegender Arbeit, daß mit zunehmendem zeitlichem Abstand zwischen Ergotamin- und Adrenalin-Injektion die Hyaluronidasehemmung abnimmt, der blockierende Effekt des Ergotamins auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins also zunimmt. Bei einem zeitlichen Abstand von 20 Minuten erreicht die Hyaluronidasehemmung ein Minimum, was dem Wirkungsoptimum des Ergotamins entsprechen dürfte. Eine weitere Steigerung des zeitlichen Abstandes dagegen führt zu einem Wiederansteigen der Hyaluronidasehemmung; der blockierende Effekt des Ergotamins auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins scheint hier wieder geringer zu werden.

Außerdem zeigt Versuchsreihe 1, daß eine einmalige subcutane Gabe von 1 γ /100 g Adrenalin eine genügende Erhöhung des Katecholamin-Blutspiegels ergibt, um bei dessen Abfall eine Hyaluronidasehemmung zu bewirken.

ZUSAMMENFASSUNG

MATHIES und Mitarbeiter konnten nachweisen, daß für den Mechanismus der Entstehung der Hyaluronidasehemmung durch Antirheumatica das Absinken des zuvor erhöhten Katecholamin-Blutspiegels wesentlich ist. Auch durch experimentell zugeführte Katecholamine konnte eine Hyaluronidasehemmung hervorgerufen werden. Durch adrenolytische Substanzen kann diese Katecholamin-Wirkung blockiert werden. Es wurde versucht, diesen blockierenden Effekt von Ergotamin auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins aufzuzeigen, unter Berücksichtigung der Latenzzeiten des Ergotamins. Hierzu wurde der zeitliche Abstand zwischen Ergotamin- und Adrenalingabe sukzessiv gesteigert und die Zunahme des blockierenden Effektes bei den Zeiten von 0 - 20 Minuten, bzw. dessen Abnahme bei Überschreiten dieser Zeiten (- 40 Minuten) nachgewiesen. Das Wirkungsoptimum des Ergotamins war nach einer Latenzzeit von 20 Minuten erreicht.

Die Versuche wurden an Ratten durchgeführt; eine Versuchsreihe umfaßte jeweils 6 Tiere. Die Einzelergebnisse wurden statistisch ausgewertet. Methodisch wurde ein Test benutzt, bei dem die Änderung der Hyaluronidaseaktivität an Hyaluronidase-Farbstoff-Quaddeln abzulesen war.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Mathies, H. : Fortschr. Med. 74, 35 (1956)
- 2) Mathies, H. u. Jankowski, A. :
 Klin. Wschr. 35, 1676 (1957)
- 3) Mathies, H. : Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D. :
 Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 5) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M. :
 Ärztl. Forsch. XIV, 1/160 (1960)
- 6) Mathies, H. u. v. Werther, G. :
 Arzneimittelforsch. 9, 576 (1959)
- 7) Mathies, H. : Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 8) Mathies, H. : Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 9) Mathies, H. u. v. Werther, G. :
 Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 10) Mathies, H. : Zschr. Rheumaforsch. 17, 375 (1958)
- 11) Mathies, H. : Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 12) Sayers, G. u. Sayers, M. :
 Endocrinology 40, 256 (1947)
- 13) Domenjoz, R. : Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 14) Mathies, H. : Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 64. Kongr. 1958
- 15) Mathies, H. : Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 16) Eichholtz, F. : Lehrbuch d. Pharmakologie, Springer Berlin-Göttingen-
 Heidelberg 1957, S. 80
- 17) Mathies, H.; Oestreich, G. u. Schwalbach, K. :
 in Vorbereitung
- 18) Mathies, H. u. Kramer, H-J. :
 in Vorbereitung
- 19) Mathies, H. u. Schlierf, G. :
 Med. Exp. 2, 334 (1960)

- 20) Mathies, H. u. Reindl, W.:
im Manuskript
- 21) Mathies, H.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65. Kongr. 1959
- 22) Loenicker, E.: Diss. München in Vorbereitung
- 23) Schwalbach, K.: Diss. München 1960
- 24) Mathies, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 240, 331 (1960)
- 25) Vogel, G., Uebel, H. u. Marek, M. L.:
Zschr. ges. exp. Med. 134, 1 (1960)
- 26) Mathies, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)

Herrn Professor Dr. W. SEITZ möchte ich für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. MATHIES für sein freundliches Entgegenkommen bei der Durchführung und Gestaltung der Arbeit, Herrn Dipl. -Math. K. G. LIEBRICH für die statistische Auswertung der Versuche danken.

LEBENS LAUF

Am 18.8.1937 wurde ich als 2. Kind des Dipl. -Ing. Friedrich Gönnerwein und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Huet, in Stuttgart geboren. Ich besuchte folgende Schulen: die deutsche Volksschule Paris, die freie Waldorfschule Engelberg/Württ., das Gymnasium in Hornburg-Saar, das Realgymnasium in Schorndorf/Württ. und das Hölderlin-Gymnasium in Stuttgart, wo ich 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1956/57 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen, wo ich nach 5 Semestern, unterbrochen durch 1 Semester Auslandsaufenthalt, das Physikum bestand. Während der klinischen Semester studierte ich an den Universitäten Tübingen, Hamburg und zuletzt München. Im Februar 1963 legte ich dort das ärztliche Staatsexamen ab.



